

增殖细胞核抗原与下咽癌临床生物学行为及预后的关系

姚连生¹ 袁湘平¹ 袁琦¹ 袁张进华² 第一军医大学南方医院¹ 耳鼻喉科 病理科 袁东 广州 510515 冤

摘要目的 通过原位检测下咽癌增殖细胞核抗原(PCNA)及其基因的表达探讨 PCNA 与下咽癌生物学特性与临床行为及预后的关系遥方法 用免疫组织化学染色 SP 法检测 48 例下咽癌手术标本和其中的 15 例癌旁组织标本 PCNA 的表达袁计算增殖指数袁结合临床与随访资料进行分析遥结果 下咽癌组 PCNA 表达程度明显高于癌旁组(P<0.001)遥PCNA 指数与癌的临床分期尧组织分化程度及预后相关 (P<0.05)袁而与是否有颈淋巴结转移和肿瘤的发生部位无显著关系 (P>0.05)遥结论 下咽癌 PCNA 的表达对判断肿瘤恶性程度及预后可能有一定的参考价值遥

关键词增殖细胞核抗原 下咽癌 免疫组织化学 鳞状细胞癌

中图分类号 院 739.63 文献标识码 院 文章编号 院 000-2588 渊 002 冤 5-0448-03

Correlation of proliferating cell nuclear antigen expression with the clinical and biological characteristics and prognosis of hypopharyngeal carcinoma

YAO Lian-sheng¹, LIXiang-ping¹, LI Qi¹, ZHANG Jin-hua²

Departments of Otorhinolaryngology¹ and Pathology², Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To study the association of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) with the biological characteristics and clinical behavior of hypopharyngeal carcinoma and with the prognosis of the malignancy. Methods SP-immunohistochemical method was used to detect the expression of PCNA in 48 cancer tissues specimens and 15 specimens of the adjacent tissue of primary hypopharyngeal carcinomas. The number of PCNA-positive cells was represented by proliferating index (PI) of the antigen. Results PCNA expression was correlated with the clinical stage, histological grade and clinical recurrence of hypopharyngeal carcinoma as well as the prognosis of the patients, but was not significantly related with the tumor location or the presence of metastasis to the cervically lymph nodes. Conclusion PCNA protein expression may help evaluate the malignancy of hypopharyngeal carcinoma and make prognostic judgement of the patients.

Key words: proliferating cell nuclear antigen; hypopharyngeal carcinoma; immunohistochemistry; squamous cell carcinoma

增殖细胞核抗原(PCNA)又称周期蛋白(cyclin)袁是 DNA 多聚酶 的辅助蛋白袁为 DNA 复制的必须物质袁在调节 DNA 复制与细胞增殖过程中起重要作用遥下咽癌又名喉咽癌袁发病率较低袁国内统计 占头颈部恶性肿瘤的 2%遥虽然其发生部位与喉癌毗邻袁但恶性程度远较后者高袁预后差遥本文应用免疫组化技术对 48 例下咽癌手术标本与其中的 15 例的癌旁组织的 PCNA 进行检测袁以探讨 PCNA 与下咽癌生物学特性尧临床行为及预后的关系遥

确诊遥 48 例病例中男 43 例尧女 5 例袁年龄 32~72 岁袁平均 56.1 岁袁病理诊断均为鳞状细胞癌遥术前未行放疗或化疗袁术后常规颈部放疗与化疗遥临床随访 3 年袁 31 例复发袁其中 10 例局部复发尧 3 例出现颈淋巴结转移袁 1 例出现远处转移袁存活 3 年者 23 例遥

1.2 切片制作

所有标本均经 10% 福尔马林或多聚甲醛固定 4 h 袁常规石蜡包埋袁 连续切片遥各留出 2 张袁张作 HE 染色袁以核实诊断袁 张作阴性对照遥

1.3 试剂与方法

免疫组化试剂盒尧抗体均购自于博士德公司袁 PCNA 单抗 PC10 渊 40 冤 为 LALB10CHEM 公司产品遥用人扁桃体组织作阳性对照袁用 PBS 代替一抗作阴性对照遥采用 SP 法尧 DAB 显色袁操作步骤按试剂盒说明书进行遥

1.4 结果判断与统计学处理

PCNA 阳性细胞核被染成棕黄色或棕褐色遥在高倍显微镜下随机计数 1000 个细胞中的 PCNA 阳性细胞数袁换成百分数袁即为增殖指数(proliferating index, PI) 或称 PCNA 指数遥采用 SPSS10.0 软件行 t 检

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取的 48 例下咽癌病例为 1994 年 1 月 ~1998 年 5 月在我院行手术治疗并随访的患者袁切除的标本作为癌组织组尧从该 48 例患者中随机选取 15 例袁同期切取癌旁正常组织作为对照组遥所有病例都经病理

收稿日期 院 001-07-25

作者简介 姚连生 渊 1973- 冤 男袁袁江西宜春人袁 1996 年毕业于第一军医大学袁现为在读硕士研究生袁袁医师袁电话 20-85141888-87323 袁 e-mail: golhasa@sina.com.cn

验和方差分析遥

2 结果

2.1 PCNA 分布特点

PCNA 主要分布于核内袁呈颗粒状或弥漫状袁癌巢中 PCNA 阳性细胞主要位于癌巢周边部袁中央较少或缺如渊图 1 冤遥

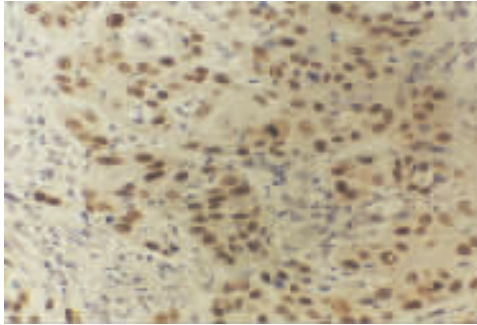


图 1 下咽癌组织中的 PCNA 阳性细胞 渊E 染色袁伊25 冤
Fig.1 PCNA-positive cells in hypopharyngeal carcinoma tissue (HE staining,伊25)

2.2 下咽癌组织与癌旁组织 PCNA 表达比较

48 例下咽癌组织的 PI 为 渊1.48伊1.14 冤袁5 例癌旁组织的 PI 为 渊1.13伊2.07 冤袁袁经统计学分析下咽癌组织的 PCNA 表达明显高于癌旁组织渊=14.980, P=0.000 冤遥

2.3 PCNA 的表达与下咽癌临床生物学行为分析

PCNA 的表达与下咽癌发生部位袁是否有淋巴结转移无相关性渊分别为 0.824 与 0.102 冤袁而与肿瘤的临床分期及组织分化程度相关渊分别为 0.021 与 0.034 冤袁即 PCNA 的表达随肿瘤的临床进展的延长袁组织分化程度的降低而增高渊表 1 冤遥

2.4 PCNA 的表达与下咽癌术后复发及患者生存期的关系

PCNA 的表达还与肿瘤术后是否复发及预后有一定的相关性袁术后复发组明显高于未复发组 (P=0.033)袁而患者术后生存期大于 3 年组显著低于 3 年以下组 (P=0.001 袁表 2) 遥

3 讨论

PCNA 是一种由 261 个氨基酸组成的酸性核蛋白袁为 36000 袁表达于细胞周期的 G₁ 后期袁期达到高峰袁₂ 期下降袁与 DNA 合成一致袁因而与细胞周期密切相关袁能反应细胞增殖活性遥因此袁CNA 是判断正常细胞与肿瘤细胞周期袁检测细胞增殖指数的重要标志物遥而细胞异常增殖可能导致肿瘤的发生袁因而肿瘤组织细胞增殖水平可能反映了肿瘤的恶性程

表 1 PCNA 的表达与下咽癌发生部位尧分期尧组织分化程度及有无淋巴结转移的相关性

Tab.1 Correlation of PCNA expression with clinical and biological characteristics of hypopharyngeal carcinoma

Item	n	PI (% , Mean伊SD)	t/F value	P value
Cancerlocation				
Pyriiformsinusarea	36	71.94伊0.95	0.195*	0.824
Posteriorwallarea	7	71.14伊2.10		
Postcricoidarea	5	68.60伊3.30		
TNMstage				
玉-域 stage	19	66.95伊0.80	2.393	0.021
芋-郁 stage	29	74.45伊0.50		
Histologicaldifferentiation				
Moderatelydifferentiated	32	69.09伊0.66	2.180	0.034
Poorlydifferentiated	16	76.25伊0.84		
Cervicallymphnodemetastasis				
Yes	23	74.13伊0.45	1.666	0.102
No	25	68.84伊1.46		

* F value of ANOVA, with the rest standing for t values; PI: Proliferating index; TNM: Tumour, nodes, metastasis classification

表 2 PCNA 的表达与下咽癌预后分析

Tab.2 Correlation of PCNA expression to carcinoma recurrence and the survival of patients with hypopharyngeal carcinoma after tumor resection

Item	n	PI (% , Mean伊SD)	t value	P value	
Recurrence after resection	Yes	31	74.00伊0.85	2.202	0.033
	No	17	66.88伊2.16		
Survival period after resection (years)	逸3	23	66.26伊1.49	3.457	0.001
	约	25	76.28伊0.48		

度遥本实验显示 PCNA 在下咽癌组织中的表达明显高于癌旁组织遥在临床上袁对下咽部良性肿瘤尧不典型增生及癌前病变病例的 PCNA 进行检测袁发现 PCNA 指数高者袁应警惕粘膜原位癌发生的可能遥我们的实验所得 PCNA 阳性指数普遍高于吴丽莉等^{渊1冤}报道的舌乳头状瘤与舌癌中 PCNA 指数袁与 Fujiwaki 等^{渊2冤}和 Krecichi 等^{渊3冤}分别报道的宫颈癌与喉癌 PCNA 指数相似袁这可能由于计算方法的不同或 PCNA 在不同组织中表达存在较大差异有关遥

一般认为袁肿瘤分化越低袁细胞增殖力越强袁恶性程度就越高遥本研究表明袁低分化组 PCNA 表达显著高于高分化组袁说明 PCNA 可以作为细胞增殖活性标记分子遥凌玲等^{渊4冤}对喉癌病人的研究发现袁CNA 表达的高低与喉癌的临床分期一致袁即芋~郁期喉癌 PCNA 的表达明显高于玉~域期袁而与有无颈淋巴结转移无关袁这与本实验结果一致遥这可能是因为 PCNA 只表明肿瘤的增殖程度袁而肿瘤的转移则与其他许多因素如 p53 尧m23 尧钙粘素 -E 尧纤维连接蛋白及局部

微环境等有关袁我们将在下一步实验中对此进行研究遥由于 PCNA 表达强度可以反映细胞增殖活性袁可能用于判断肿瘤细胞的生长速度袁协助鉴别良恶性病变遥

肿瘤的复发尧预后与肿瘤的恶性程度密切相关遥我们实验的结果表明袁下咽癌中 PCNA 的表达与肿瘤是否复发及预后有关遥复发组癌细胞增殖活性明显高于未复发组袁这可能是由于肿瘤细胞增殖能力越强袁术后残留癌细胞在局部生长越快袁越易复发遥相似地袁生存期低于 3 年组 PCNA 的表达也明显高于 3 年以上组袁在喉癌尧胃癌等恶性肿 瘤研究 中也有类似结果遥表明 PCNA 的表达可作为判断下咽癌预后的一个指标遥因此袁检测肿瘤细胞增殖活性对评估下咽癌患者的预后有一定参考价值遥此外袁Morawski 等在对喉癌术后病人的研究中发现袁术后局部复发组 PCNA 指数显著高于未复发组遥因此袁通过原位检测肿瘤病人术后 PCNA 的表达袁可用于预测术后肿瘤的复发遥本实验还发现袁在癌巢周边及肿瘤浸润的前缘区域袁CNA 表达较高袁而在癌巢中央区袁其在有 明显角化的癌细胞中袁CNA 表达极低袁甚至不表达袁在其他肿瘤中也有类似的情况遥遥遥遥见这种现象的产生是由 PCNA 自身的特性所决定的袁但具体机制还有待于进一步研究遥

参考文献院

咱暂 樊忠, 王天铎. 实用耳鼻咽喉科学咱暂第 2 版, 济南: 山东科学技术出版社, 1998. 515-34.

咱暂 YuCC, FletcherCD, NewmanPL, et al. A comparison of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region (AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors咱暂 J Pathol, 1992, 166(2): 147-52.
咱暂 吴丽莉, 郑唯强, 余永伟. 舌乳头状瘤及鳞状细胞癌组织中的 PCNA 及 AgNOR 表达咱暂第一军医大学学报, 1997, 18(7): 7-9.
WuLL, ZhengWQ, YuYW. The expression of PCNA and AgNOR in human papilloma and squamous cell carcinoma of tongue咱暂 J FirstMilMedUniv, 1997, 18(1): 77-9.
咱暂 FujiwakiR, HetaK, IidaK, et al. Thymidine phosphorylase expression in progression of cervical cancer: Correlation with microvessel count, proliferation cell nuclear antigen, and apoptosis咱暂 J Clin Pathol, 1999, 52(8): 598-603.
咱暂 KrecichiT, JelenW. Proliferating cell nuclear antigen in laryngeal cancer咱暂 LaryngolOtol, 1998, 112(3): 310-3.
咱暂 凌玲, 周敏好, 王辉尊. 喉癌 EGFR 和 PCNA 表达及 DNA 含量的研究咱暂临床耳鼻咽喉科杂志, 2000, 14(3): 99-101.
咱暂 SaracS, AyhanA, HosalAS, et al. Prognostic significance of PCNA expression in laryngeal cancer咱暂 Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 124(12): 1321-4.
咱暂 KonnoS, TakebayashiY, AibaM, et al. Clinicopathological and prognostic significance of thymidine phosphorylase and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma咱暂 Cancer Lett, 2001, 166(1): 103-11.
咱暂 MorawskiK, NamyslowskiG, GabrielA et al. Assessment of usefulness of PCNA and oncoprotein p53 staining in prediction of the recurrences in subjects operated on for laryngeal carcinoma咱暂 Otolaryngol Pol, 2000, 54(4): 393-9.
咱暂 HainesGK, PanosRJ, BakPM, et al. Interferon-responsive protein kinase (p68) and proliferating cell nuclear antigen are inversely distributed in head and neck squamous cell carcinoma咱暂 Tumor Biol, 1998, 19(1): 52-9.

渊接 447 页冤

防止精神创伤是治疗的根本措施遥

根据本组 31 例患者的临床资料袁总结出甲亢性心脏病的临床特点有: 渊1) 临床症状不典型袁高代谢症群少见袁起病隐匿袁多数患者没有纳亢进渊2) 组只占 12% 渊3) 怕热尧多汗尧激动尧心动过速及震颤等典型的甲亢表现渊4) 表现为表情抑郁渊5) 组占 58% 渊6) 厌食渊7) 74% 渊8) 消瘦渊9) 84% 渊10) 及腹泻等袁称之为淡漠性甲状腺功能亢进渊11) 冤心血管系统症状突出渊12) 胸闷尧心悸多见袁常伴心律失常渊13) 组占 97% 渊14) 心脏扩大渊15) 55% 渊16) 心力衰竭渊17) 35% 渊18) 心绞痛袁为首诊的主要原因渊19) 冤渊20) 甲状腺一般不大袁不易扪及袁甲状腺听诊极少闻及血管杂音袁大多无甲亢眼症渊21) 组甲状腺肿大占 20% 渊22) 袁眼占 10% 冤

误诊分析: 甲亢性心脏病常以心律失常尧心脏扩大尧心力衰竭尧心绞痛等为主要表现袁其中以心房纤颤最多见遥房颤是甲亢的症状之一或首发症状袁在甲亢病人中的发生率为 12% ~ 18% 袁极易误诊为冠心病尧并发慢性阻塞性肺气肿时易误诊为肺源性心脏病尧并发高血压时易误诊为高血压性心脏病遥本组误诊为冠心病者 9 例袁肺源性心脏病心力衰竭者 3 例袁高血压心脏病者 2 例遥为了减少甲亢性心脏病的误诊袁临床医师应

提高对本病的警觉性袁对该病的临床表现应有充分的认识袁对心室率快特别是夜间心室率较快袁经一般治疗不易控制心室率的房颤尧对洋地黄及血管扩张剂反应差的心力衰竭尧对表情淡漠尧厌食尧腹泻尧消瘦尧衰竭或不伴心动过速者袁均应考虑甲亢性心脏病的可能遥同时袁临床医师应提高对老年人甲亢的认识袁详细询问病史袁系统体格检查并及时做甲状腺功能检测袁减少老年性甲亢性心脏病的误诊或漏诊遥

参考文献院

咱暂 HamiltonMA, StevensonLW, FonarowGC, et al. Safety and hemodynamic effects of intravenous triiodothyronine in advanced congestive heart failure咱暂 AmJCardiol, 1998, 81(4): 443-51.
咱暂 FruhwaldFM, RamschakSS, PichlerB, et al. Subclinical thyroid disorders in patients with dilated cardiomyopathy咱暂 Cardiology, 1997, 88(2): 156-9.
咱暂 中华心血管病杂志编辑委员会. 心房颤动的临床与研究进展咱暂 中华心血管病杂志, 1996, 4(渊5): 59-62.
咱暂 冀存芳. 老年甲状腺功能亢进症 16 例误诊为冠心病咱暂 临床误诊误治, 1999, 2(渊3): 36-7.